



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین

دانشکده پیراپزشکی

گروه بیوتکنولوژی پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

عنوان: بررسی اثر کوئرستین استریفیه شده با اسیدهای چرب امگا۳ و امگا۶ بر میزان بقای سلولی و بیان ژنهای BAX و BCL-2 در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان انسانی

استاد راهنما: جناب آقای دکتر نعمت الله غیبی

اساتید مشاور: جناب آقای دکتر علیرضا فراست

جناب آقای دکتر حسین احمدپور یزدی

دانشجو: لیلا صوفی

دی ماه ۱۳۹۹

چکیده

پیش زمینه . کوئرسستین یکی از فلاونوئیدهای مهمی است که اثرات خود را با تنظیم بیان ژنهای دخیل در مسیر آپوپتوز مانند BAX و BCL2 بر روی سلولهای مختلف اعمال می نماید. همراه ساختن کوئرسستین با برخی ترکیبات اثربخشی آن را افزایش می دهد. در مطالعه حاضر، اثر کوئرسستین استریفیه شده با آلفالینولنیک اسید و لینولئیک اسید بر میزان بقای سلولی، ویژگی های نانومکانیکال سلول ها، و بیان ژنهای BAX و BCL-2 در سلولهای MCF-7 بررسی گردیده است.

مواد و روشها. با استفاده از تستهای MTT و فلوسایتومتری پتانسیل سیتوتوکسیک ترکیبات و درصد آپوپتوز و نکروز سلولی بررسی گردید. بررسی ویژگی های نانومکانیکال سلولها، مانند مدول الاستیک و نیروی چسبندگی سلولی توسط میکروسکوپ نیروی اتمی انجام گردید. میزان بیان ژنهای BAX و BCL2 نیز با استفاده از ریل تایم پی سی آر بررسی شد.

نتایج. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، استریفیکاسیون کوئرسستین با لینولئیک اسید (Q-LA) و آلفالینولنیک اسید (Q-ALA)، پتانسیل سیتوتوکسیک کوئرسستین را افزایش می دهد. مدول الاستیک و نیروی چسبندگی سلولهای MCF7 در تیمار با مشتقات استریفیه کوئرسستین افزایش یافت. بیشترین نسبت بیان ژن BAX به BCL2 در تیمار با کوئرسستین استریفیه شده با لینولئیک اسید بوده است.

نتیجه گیری: یافته های مطالعه حاضر نشان می دهد که مشتقات استریفیه اثر سیتوتوکسیک بالاتری نسبت به فرم غیرکونژوگه کوئرسستین داشتند و این اثر بصورت وابسته به دوز بوده است. بیشترین اثر این ترکیبات در غلظت $250 \mu\text{M}$ مشاهده گردید. مشتقات استریفیه کوئرسستین سبب تغییرات ویژگی های نانومکانیکال سلولی و شکل گیری حفرات آپوپتوتیک بر روی سطح غشای سیتوپلاسمی گردیدند. یکی از مکانیسم های تنظیم مسیر داخلی آپوپتوز توسط این ترکیبات، افزایش نسبت بیان ژن BAX به BCL2 می باشد.

کلمات کلیدی: کوئرسستین- مشتقات استریفیه - اسیدهای چرب - سلولهای MCF7- ویژگی های نانومکانیکال

سلول- نسبت بیان ژن BAX به BCL2.



Qazvin University of Medical Sciences

Paramedical Sciences Faculty

Medical Biotechnology Group

Thesis for master's Degree

Title:

Effects of the Esterified Quercetin with omega3 and omega6 fatty acids
on cell viability and BAX and BCL-2 gene expression in MCF-7 Human
Breast Cancer Cell Line.

Supervisor: Dr.Nematollah Gheibi

Advisors: Dr.Alireza Farasat

Dr.Hosseini Ahmadpour Yazdi

Written by: Leila.Soufi

January 2021

Effects of the esterified Quercetin with omega3 and omega6 fatty acids on cell viability and BAX and BCL-2 genes expression in MCF-7 Human Breast Cancer Cell Line.

Abstract:

Background: Quercetin is one of the major flavonoids that seem to have cytotoxic effects on various cancer cells by regulating the apoptosis pathway genes as BAX and BCL2. Combination of Quercetin (Q) with some other compounds can increase its effectiveness. In the present study, the effects of the Quercetin and its esterified derivatives on viability, nanomechanical properties of cells, and BAX/BCL-2 gene expression were investigated.

Materials and Methods: By the MTT and flow cytometry assays, the cytotoxic potential, apoptosis, and necrosis percent were investigated. The AFM assay was performed to founding the nanomechanical properties of cells as the elastic modulus value and cellular adhesion forces. The BAX/BCL2 gene expression was investigated by the Real-Time PCR.

Results: In this study, results showed that the esterification of Quercetin with linoleic acid (Q-LA) and α -linolenic acid (Q-ALA) increase the cytotoxic potential of Quercetin (Q). The elastic modulus value and cellular adhesion forces were increased using the esterified derivatives and the highest ratio of BAX/BCL2 gene expression was observed in Q-LA.

Conclusion: Our findings indicated that esterified Quercetin derivatives have a higher cytotoxic effect than the un-esterified form in a dose-dependent manner. The greatest effect of these compounds was observed at 250 μ M. Esterified

derivatives caused the nanomechanical changes and pores formation on the cytoplasmic membrane. One of the internal apoptosis pathway regulation mechanisms by these compounds was increasing the BAX/BCL2 gene expression ratio.

Keywords: Quercetin- Esterified derivatives- Fatty acids- MCF7 cells- Nano-mechanicalProperties- BAX/BCL2 gene expression.